

THESIS

MUNICH

1965

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

ÜBER DEN EINFLUSS VON LANATOSID C
AUF ACTOMYOSINLÖSUNGEN
NORMALER UND
HYPERTROPHER KANINCHENHERZEN
UV-spektrophotometrische Untersuchungen

Gerhard | Gaukler

ÜBER DEN EINFLUSS VON LANATOSID C
AUF ACTOMYOSINLÖSUNGEN
NORMALER UND
HYPERTROPHER KANINCHENHERZEN

UV-spektrophotometrische Untersuchungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gerhard Gaukler
aus Ellwangen (Jagst)

München 1965

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Prof. Dr. H. NOWY
Korreferent:	Prof. Dr. W. SEITZ
Dekan:	Prof. Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 7. XII. 1965

MEINER MUTTER GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	7
METHODE	11
ERGEBNISSE	14
DISKUSSION	24
ZUSAMMENFASSUNG	27
LITERATURVERZEICHNIS	28
LEBENS LAUF	37

EINLEITUNG

Die therapeutische und pharmakologische Wirksamkeit der herzwirksamen Glykoside wurde, seit ihrer Entdeckung durch WITHERING (1785) weitgehend geklärt und ausführlich beschrieben (33, 50). Bis heute kann noch keine zufriedenstellende Antwort auf die Frage nach dem eigentlichen Wirkungsmechanismus dieser Stoffe gegeben werden.

In zahlreichen Experimenten wurde versucht, eine Veränderung der Zellmorphologie, der Energiebereitstellung (Aufnahme und Umsatz von O_2 und Nährstoffen, Intermediärstoffwechsel, Bildung von energiereichen Phosphaten) oder der Energieausnutzung (kontraktiler Apparat, Membranpermeabilität, Ionenkonzentration) nach Digitaliszufuhr zu finden. Ergebnisse, die sich nicht auf die unmittelbare Beeinflussung des kontraktilen Apparates beziehen, seien hier nur kurz angedeutet. Ausführliche Zusammenfassungen liegen vor (59, 77).

BÜCHNER (9) und BAUER (2) sahen bei akuten Toxizitätsversuchen und chronischen Glykosidverabreichungen in hohen Dosen degenerative Herzveränderungen, Nekrosen und Veränderungen am Reizleitungssystem (59).

Eine Erhöhung der Sauerstoffaufnahme nach Glykosideinwirkung und damit eine Stimulation der Zellatmung konnte für Herzmuskelschnitte nachgewiesen werden (83, 59, 46, 22). Am Muskelhomogenat fehlte dieser Effekt (84).

WOLLENBERGER (85) stellte durch Verwendung von C^{14} markierter Glukose an Schnittpräparaten eine Verschiebung des Glukoseabbaus zu CO_2 und H_2O bzw. Milchsäure fest. Hierbei soll eine Verschiebung vom glykolytischen zum oxydativen Metabolismus den energetischen Wirkungsgrad des Kohlehydratabbaus verbessern.

Nach KUTSCHERA (44) werden die Herzglykoside wirksam durch Bindung an die Zellphosphatide. Diese Annahme könnte eine Erklärung für das bessere Ansprechen von Digitalisglykosiden auf hypertrophe Herzmuskulatur geben. In dieser lässt sich, bei unverändertem Gesamtlipoidgehalt, eine selektive Zunahme der Phosphatide nachweisen (71). SCHLIOMENSUN (70) stellte fest, dass die Bindung von Glykosiden an Phosphatidgemische aus Herzmuskelextrakten stärker ist, als an vergleichbaren Phosphatidemulsionen anderer Organe.

Therapeutische Glykosiddosen verändern den ATP- und PK-Gehalt des suffizienten und insuffizienten Herzens nicht (84). Nur toxische Digitalisdosen führen zu einer Abnahme des PK-Gehaltes (81). BOGATZKY und STAUB (7) stellten hierbei nach kurzdauernder Behandlung mit hohen Digitoxindosen eine verstärkte Spaltung des PK zugunsten des ATP und eine Zunahme an ADP und anorg. PO_4 fest.

Versuche mit Dinitrophenol (DNP) (75), das die Atmungskette von der Phosphorylierung entkoppelt, führen zu einer Verhinderung der Glykosidwirkung.

Elektrophysiologische Untersuchungen über eine direkte Wirkung der Herzglykoside auf den Erregungsvorgang in der Myokardzelle zeigten kurz nach einer Strophantinapplikation eine Verlängerung des Aktionspotentials, darauffolgend eine Verkürzung der Repolarisationszeit und Versteilerung des Potentialanstiegs (16, 86) (Verlust des Plateaus). Unbestritten ist der schon von LOEWI festgestellte und auch klinisch bedeutungsvolle Synergismus zwischen Ca^{++} und Glykosiden (60). Die Glykosidwirkung fehlt in Ca^{++} freier Ringerlösung.

Man nimmt an, dass die Herzglykoside das Myokard für die Ca^{++} -Wirkung sensibilisieren. Ein Effekt, der allerdings auch für andere Substanzen festgestellt werden konnte (K^+ -, Äthylalkohol) (23). Herzaktive Glykoside mindern nach WILLBRANDT (80, 12) den Ca^{++} -Austritt aus dem Myokard um 71 % und führen damit zu einer starken intrazellulären Ca^{++} -Anreicherung.

Verschiedene Methoden sicherten experimentell den Befund einer K^+ -Verarmung des Myokards unter Glykosideinwirkung (29, 10, 60). Sowohl hemmende Einflüsse auf den K^+ -Einstrom bei gleichzeitiger Hinderung des Na^+ -Austritts (13, 76) als auch Förderung des K^+ -Austritts sind nachweisbar (66).

Neuere Versuche berichten von einem hemmenden Einfluss der Glykoside auf die Membran-ATPase (57, 59).

Die energieliefernden Prozesse bieten insgesamt hinsichtlich ihrer Beeinflussbarkeit durch Herzglykoside noch keinen einheitlichen Hinweis zur Lösung des Problems.

Neuerdings konzentriert sich deshalb das Interesse auf die Energieausnutzung v. a. auf den kontraktilen Apparat.

In erster Linie WEBER (79) und SZENT GYÖRGYI (68) ist es gelungen, die einzelnen fibrillären Eiweisskörper zu isolieren und den Prozess der Muskelkontraktion bis in Einzelheiten aufzuklären.

Der Myosinkomplex konnte in folgende Komponenten zerlegt werden: Tropomyosin, Paramyosin, Nukleotropomyosin und das an der Kontraktion beteiligte L-

Myosin (A-Myosin) (68, 79). Ein zweiter Eiweisskörper, das Actin, kommt in zwei ineinander überführbaren Zustandsformen vor: als fibrilläres F-Actin und globäres G-Actin. Bei der Vereinigung von F-Actin und L-Myosin entsteht das Actomyosin (Myosin B, Myosin S) (68). Unter bestimmten Bedingungen ist es möglich aus Muskulatur direkt "natürliches" Actomyosin zu isolieren. Seit es SZENT GYÖRGYI (68) gelungen ist, isolierte Actomyosinfäden zur Kontraktion zu bringen, ist es als sicher anzunehmen, dass die Kontraktilität des Muskels auf eine solche Wechselwirkung zwischen ATP und Actomyosin zurückzuführen ist. Solche "Muskelmodelle" mit erhaltener histologischer Struktur stellten u.a. ideale Substrate für Versuche im Rahmen unserer Fragestellung dar.

BOWEN (8), ROBB und MALLOW (61) konnten bei Anwesenheit von Glykosiden eine Kontraktilitätszunahme von Actomyosinpräparaten bei ATP-Zugabe nachweisen. ROBB und MALLOV zeigten ausserdem, dass die Verkürzung bei Herzmuskulatur stärker ist als beim Skelettmuskel. EDMAN (18, 19) erreichte eine verstärkte Kontraktion (33 %) unter Ouabain nur bei Anwesenheit von Ca^{++} . Der Effekt ist jedoch nicht glykosidspezifisch; Histamin, Alkohol u.a. bewirken dieselbe Verkürzungszunahme. BENSON (5) zeigte am glycerinextrahierten Muskelstreifen aus insuff. Herzen eine verminderte Kontraktion gegenüber Normalherzen. KAKO und BING (38) gelang es, diese unvollständige Kontraktion mit Digoxin bei Anwesenheit von Ca^{++} zu normalisieren.

Nach HORVATH (37) fördern Glykoside die Überführung des G-Actin in die fibrilläre Form. Adrenalin und Ca^{++} führen allerdings ebenfalls zu diesem Effekt (73), der an gereinigtem Actomyosin ganz fehlte (43). KUSCHINSKY (43) stellte eine Verkürzung der Extraktionszeiten kontraktile Proteine aus grobzerkleinertem Muskelextrakt bei Zugabe von Digitoxin fest. SNELLMANN (69) beschrieb eine Hemmung der fermentativen Desaminierung von Herzactin durch Digitaliskörper.

Bei Untersuchungen über die Bindungsweise fand SCHAER (64) 1 Mol Glykosid an 1 Mol Myosin gebunden. DYBING (17) zeigte durch Austauschdialysen, dass das Myogen des Herzmuskels fast doppelt soviel Glykoside bindet wie diese Fraktion des Skelettmuskels und etwa viermal soviel wie das Globulin X und das Myosin des Herzmuskels.

Die Viskosität von Herzmuskeleiweissfraktionen wurde durch Strophantin nicht bzw. nur wenig verändert (36, 77).

WASER (77) gab in mehreren Arbeiten weitere Anhaltspunkte für eine Digitaliswirkung auf den kontraktilem Apparat. Er stellte für herzaktive Glykoside fest, dass sie die Thixotropie von Actomyosinlösungen vermindern. Herzinaktive Glykoside erhöhen diese. Ausserdem fand er durch Glykoside ausgelöste beträcht-

liche Erhöhungen der an Actomyosin gebundenen Ca^{++} - und K^+ -Menge. Eine Änderung des optischen Drehvermögens von Actomyosin auf Zugabe von Herzglykosiden konnte nicht beobachtet werden (39).

Eine Klärung des Wirkungsortes gelang bis jetzt auch nicht auf dem Wege der radioaktiven Markierung von Digitalisstoffen. St. GEORGE (25) fand bei fraktionierter Zentrifugation am meisten Digitoxin im Überstand einer Fraktion, die mit 22000 g abzentrifugiert worden war und die leicht lösliche Proteine enthalten soll. Im Gegensatz dazu lokalisierten HARVEY und PIEPER (30) die höchste Aktivität in der bei 1710 g abzentrifugierten Mitochondrien- und Trümmersfraktion. Auch WASER (77), SPRATT und OKITA (72) kommen zu keinem eindeutigen Ergebnis.

Versuche über Änderungen im UV-Spektrum von Proteinen nach Glykosidzugaben wurden bis jetzt nur von ROBB (63) für Actomyosin durchgeführt. Er stellte einen Einfluss von ATP auf das Actomyosinspektrum fest. Einige Substanzen, darunter Digitoxin, bewirkten eine Senkung des gesamten Kurvenverlaufes.

Die mikroskopischen Strukturveränderungen bei der Aktivitätshypertrophie des Herzmuskels wurden vor allem von LINZBACH untersucht. LINZBACH erklärte die bei der Hypertrophie entstehende Grössenzunahme der Myofibrillen mit einer Vermehrung der Myosinmoleküle bis zu einer optimalen, funktionell angepassten Faserdicke der Fibrillen (47).

NOWY (28, 54, 55) konnte präparativ und elektrophoretisch ein Anwachsen des relativen Actomyosingehalts von hypertrophem Kaninchenherzmuskel gegenüber normaler Herzmuskulatur sichern. Es wurde eine Zunahme der Actomyosinkonzentration von 30 % in den ersten 4 Wochen der Hypertrophieentwicklung festgestellt. Die leicht löslichen, nicht kontraktile Proteine nahmen um 25 % ab.

Die meisten in der Literatur vorliegenden Experimente wurden an normalen Tieren vorgenommen und berücksichtigen deshalb nicht die therapeutische Wirkungsweise der Herzglykoside in vivo.

Es musste deshalb interessant sein, die Veränderungen der Herzmuskelproteine und ihre Beeinflussbarkeit durch Glykoside bei einer experimentellen Herzhypertrophie und Insuffizienz spektrophotometrisch zu verfolgen. Dieser Absicht dient die vorliegende Arbeit.

Es wurden die UV-Spektren von Cedilanid, isoliertem Herzmuskelprotein und Mischungen beider untersucht. Das Protein stammte teils von normalen, teils von hypertrophen Kaninchenherzen mit und ohne Insuffizienz.

Die für unsere Versuche verwendeten Tiere wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Die erste Serie von 6 Kaninchen waren unbehandelte Vergleichstiere.

Einer zweiten Gruppe von 8 erwachsenen Kaninchen setzte man ein künstliches Aortenvitium (Operationen und Druckmessungen wurden von Prof. Dr. H. NOWY und Dr. H. D. FRINGS durchgeführt). Bei der Operation wurde ein Perforator über die Art. carotis in den linken Ventrikel eingeführt und damit am Aortenausgang die Semilunarklappen verletzt. Eine genaue Beschreibung der Operationstechnik wurde in einer Veröffentlichung von H. NOWY, H. D. FRINGS, A. WALCHER und L. TENDERICH (54) angegeben. Die Operation wurde in 3 Fällen nach 5-6 Monaten zur Verstärkung des Klappenfehlers wiederholt.

Als Anhaltspunkt für die gesetzte Klappeninsuffizienz diente der sofort messbare diast. Druckabfall in der Art. carotis. (Elektr. Druckmessung Statham P 23 A.)

Nach der Operation erholten sich die Tiere unter Antibiotikaschutz sehr rasch. Bis zur Sektion nach etwa 5-6 Monaten hatte sich eine Herzhypertrophie mit oder ohne Insuffizienz ausgebildet.

Sektion und Präparation des Herzens:

Die vorher gewogenen Tiere wurden nach Urethannarkose in Rückenlage fixiert. Nachdem erneut ein EKG und eine Druckmessung der Ventrikel (transthorakale Punktierung) gemacht worden waren, erfolgte die Entnahme des Herzens aus dem Brustkorb. Das kräftig schlagende Herz kam sofort in eine bereitgestellte Schale mit Tyrodelösung von 25-30°C. Um das Herz und den Coronarkreislauf so vollständig wie möglich von Blut zu befreien, wurde eine Kanüle mit Tyrodezuleitung in den Aortenstumpf eingebunden. Die mittels Thermostat konstant bei 25-30°C gehaltene Tyrodelösung floss dann unter leichtem Druck in die Aorta ein (Langendorff Präparat). Die Durchströmung wurde solange fortgesetzt, bis die ablaufende Lösung klar blieb und die sichtbaren Coronargefäße farblos waren. Gleichzeitig befreite man das Herz von evtl. noch vorhandenen grösseren Gefässstümpfen. Das noch schlagende Herz wurde dann abgetrocknet und mit einer grossen Zahl in flüssigem Stickstoff vorgekühlten Stahlnadeln, die auf einer Metallscheibe aufsitzen, durchbohrt. Dann kam das Herz noch kurze Zeit in ein Gefäss mit flüssigem Stickstoff.

Mit dieser plötzlichen Unterkühlung sollten im Herzen alle Lebensvorgänge schlagartig unterbrochen werden.

Bis zur Weiterverarbeitung wurde das Herz in Trockeneis aufbewahrt.

Isolierung von Actomyosin:

Der in Trockeneis aufbewahrte Herzmuskel wurde von den sichtbaren Binde- und Fettgeweben befreit, gewogen und in Vorhöfe, rechten und linken Ventrikel zerlegt. Nach Herauslösen der Papillarmuskeln für spätere histologische Untersuchungen wog man jeden dieser Herzteile noch einzeln. In gefrorenem Zustand wurden 2 g des linken Ventrikels abgewogen. Eine mit Trockeneis vorgekühlte Glasplatte verhinderte ein stärkeres Auftauen des Gewebes beim Schneiden.

Die abgewogene Menge wurde anschliessend 2 Minuten mit 10 ml 0,6 m KCl-Lösung homogenisiert und das Gerät mit 10 ml 0,6 m KCl nachgespült.

Der so gewonnene Muskelbrei kam 4 Stunden zur Extraktion in den Kühlschrank. Der Extrakt wurde dann in Polyäthylenbecher umpipettiert und in einer Kühlzentrifuge (2-4°C) bei 17000 g und 45 Minuten Laufzeit zentrifugiert. Geringere Laufzeiten ergaben unvollständige Sedimentation.

Der gewonnene klare Überstand war orangegelb gefärbt. Es folgte eine 24-stündige Dialyse gegen 0,6 m KCl-Lösung, die dabei mehrmals gewechselt wurde. Zur Dialyse band man ein etwa 10 cm langes Stück Dialyseschlauch an einem Ende mit Zwirn kräftig und doppelt zu. Den Extrakt füllte man in den entstandenen Sack ein. Um eine möglichst grosse Diffusionsfläche zu schaffen, wurden die Wände dieses Sackes zu einer Kapillarschicht zusammengepresst und luftblasenfrei geschlossen.

Nach Umgiesen des Dialysats in ein 100 ml Zentrifugenglas konnte, durch Verdünnen der Lösung mit 4 Teilen aqua dest., das schwerlösliche Protein (Actomyosin) als deutlich sichtbarer weisser Niederschlag ausgefällt werden.

Das Präcipitat liess sich in einer Kühlzentrifuge ($t < 10^{\circ}\text{C}$) bei 2000 g in 12 Minuten abzentrifugieren. Der Überstand wurde mit einer Kapillare abgesaugt. Das zurückbleibende Actomyosinergel wurde noch zweimal mit 0,1 m KCl-Lösung gewaschen, wieder aufgewirbelt, jeweils 8 Minuten niedertourig zentrifugiert und der Überstand verworfen. Der verbleibende Bodensatz wurde mit 20 ml 0,6 m KCl aufgenommen. Dabei blieben geringe Mengen ungelöst.

Die ungelosten Partikelchen wurden in der Kühlzentrifuge in einer Viertelstunde bei 17000 g abzentrifugiert. Der schwach opaleszierende Überstand stellte die Stammlösung zur Weiterverarbeitung dar. Abgesehen von dem zusätzlich ausgeführten Waschen entspricht dies der Methode von SZENT GYÖRGYI (68). Von HAYASHI (31) wurde diese Originalmethode etwas modifiziert und in dieser Form von ROBB (63) verwendet.

Spektrophotometrie:

Als Spektrophotometer wurde das Gerät PM Q 2 in Verbindung mit dem Doppelmonochromator MM 12 der Firma Carl Zeiss verwendet. Es wurde die übliche Methode der Absorptionsspektren angewandt.

Bei Anfertigung einer Messreihe wurde nach folgendem Schema vorgegangen:

2 ml Actomyosinstammlösung	+ x ml 0,6 m KCl-Lösung	A
2 ml Actomyosinstammlösung	+ x ml 10^{-5} m Cedilanid in 0,6 m KCl-Lösung	B
2 ml 0,6 m KCl-Lösung	+ x ml Cedilanid in 0,6 m KCl-Lösung	C

Die Menge x wurde in einem Vorversuch jeweils so bestimmt, dass die Messungen in dem optimalen Messbereich des Gerätes ($= 0,2-0,8$) durchgeführt werden konnte. Innerhalb einer Messreihe blieb die Verdünnung x konstant. Bei allen Messreihen lag x zwischen 1 und 4 und damit die Endkonzentration von Cedilanid bei $3-7 \times 10^{-6}$ m. Die in 1 g Herzmuskulatur enthaltene Actomyosinmenge war somit nach der Verdünnung in 15-30 ml Lösungsmittel gelöst. Jeder komplette Versuch bestand aus 3 Ansätzen der Lösungen A und B, und 2 der Lösung C. Die beste Methode zur Vermeidung von Verdünnungsfehlern ergab sich in der Verwendung immer derselben, entfetteten Vollpipette mit gemessener Auslaufzeit. Diese musste entgegen dem üblichen Brauch ausgeblasen werden.

Die fertigen Ansätze wurden nach 20-50 Stunden teils durch eine Fritte 3 G 1 (Schott und Söhne, Mainz) gefiltert, teils 15 Minuten mit 17000 g zentrifugiert.

Die Messung erfolgte gegen eine mit 0,6 m KCl-Lösung gefüllten Nullküvette. Die Absorptionsunterschiede der Küvetten wurden vor und nach der Messung bestimmt und die Messwerte entsprechend korrigiert. Als zulässiger Küvettenfehler wurde bei 260 m μ ein ΔE von 0,005 angesehen. Die Werte wurden zwischen 230 m μ und 320 m μ in Abständen von 5 m μ abgelesen und mehrfach kontrolliert. Der Küvettenhalter war während der Messung durch Wasserdurchfluss auf konstanter Temperatur. Nach 2 Versuchsreihen wurden die Küvetten mehrere Stunden mit warmer Chromschwefelsäure gereinigt.

ERGEBNISSE

In den ersten Tabellen sind die Daten der von uns untersuchten Kaninchen zusammengestellt: in Tabelle 1 für 8 unbehandelte, in Tabelle 2 für 9 operierte Tiere. Die in Spalte 2 angegebenen Werte sind die Tiergewichte unmittelbar vor der Sektion.

Der Mittelwert des Quotienten aus Herz- und Tiergewicht (relatives Herzgewicht) ist bei den operierten Tieren fast doppelt so gross als bei den Normaltieren (Spalte 5)

Spalte 1	2	3	4	5	6
Tier Nr.	Tiergew. g	Herzgew. g	Ventr.gew. (re. li.) g	Herzgew. (g) Tiergew. (kg)	Carotis druck- ampl. mm Hg
N 174	3580	10,151	8,101	2,83	
N 176	4490	10,981	8,508	2,44	
N 203	5150	11,445	8,746	2,22	
N 204	4000	9,260	7,488	2,31	
N 172	3250	7,049	5,305	2,16	
V 5	-	9,034	7,884	-	
V 10	-	5,888	5,315	-	
V 11	-	5,802	4,457	-	
Mittelwerte	4094			2,39	23 ⁺

TABELLE 1

Normaltiere

⁺ Mittelwerte einer grösseren Zahl von Messungen (NOWY und FRINGS) (54)

Die mit V bezeichneten Tiere wurden uns freundlicherweise vom veterinäremed. Institut der Universität München zur Verfügung gestellt.

In die Tabellen sind ausserdem noch Messwerte der Differenz zwischen systolischem und diastolischem Druck in der Art. carotis aufgenommen.

Bei Normaltieren ergibt sich aus zahlreichen Messungen⁺ ein Mittelwert von 23 mm Hg (54). Bei allen operierten Tieren trat während der Operation eine deutliche Zunahme dieser Druckdifferenz ein. Für die 9 in Tabelle 2 aufge-

⁺ Die Messungen wurden von Prof. H. NOWY und H. D. FRINGS durchgeführt. (55)

fürten Tiere ergibt sich nach der ersten Operation ein Mittelwert von 41 mm Hg der sich in den Monaten bis zur Sektion noch weiter erhöhte. Bei dem Versuch einer 2. Operation konnte durch weitere Klappenzerstörung die Amplitude um zusätzlich 10-20 mm Hg gesteigert werden.

Für die Klassifizierung der hypertrophen Herzen in insuffiziente und nicht insuffiziente (Tab. 2 Spalte 10) waren die Zeichen der konsekutiven Rechtsinsuffizienz (Ascites, Lungen- und Leberstauung), bzw. der rechte Ventrikeldruck ausschlaggebend.

Die 11. Spalte der Tabelle 2 enthält die Actomyosingehalte des linken Ventrikels in % des Feuchtgewichtes. Diese wurden von FREITAG (24) nach dem Verfahren von Kjeldahl bestimmt.

Die Tiere in Tabelle 2 wurden nach steigendem Actomyosingehalt angeordnet. Die Extinktionsmaxima der spektrometrischen Messungen sind in der letzten Spalte aufgeführt.

Abb. 1 enthält die UV-Spektren des nach der beschriebenen Methode isolierten Actomyosins aller Normaltiere. Die Extinktion sinkt mit steigender Wellenlänge und erreicht bei 320 m μ minimale Werte von 0,1. Es zeigt sich ein deutlich ausgeprägtes Extinktionsmaximum, das in allen Fällen bei genau 260 m μ liegt. Die entsprechende Kurvenschar für operierte Tiere zeigt Abb. 2. Der Kurvenverlauf ist genau derselbe wie bei den Normaltieren. Das Extinktionsmaximum liegt unverändert bei 260 m μ .

Die verschiedene Amplitude der einzelnen Kurven ist eine Folge der verschiedenen Konzentrationen; jedoch ist der Kurvenverlauf bei allen untersuchten Tieren derselbe. Bildet man für alle Kurven z.B. das Verhältnis 250 m μ /260 m μ und 280 m μ /260 m μ so ergibt sich:

	250 m μ /260 m μ	280 m μ /260 m μ
Normaltiere	0,90 $\pm$ 0,009	0,63 $\pm$ 0,011
Op. Tiere	0,90 $\pm$ 0,009	0,63 $\pm$ 0,007

Daraus ist ersichtlich, dass die Form der Spektren in der Umgebung des Maximums bei normalen und hypertrophen Herzen dieselbe ist.

Das charakteristische Verhalten des Actomyosin-Spektrums bei Zugabe von Cedilanid zeigt Abb. 3 für das Normaltier V 11.

Das Cedilanid bewirkt keine Veränderung der Actomyosin-Kurve. Die Werte des Cedilanid-Spektrums (Kurve C) addieren sich der Actomyosin-Kurve (Kurve A) lediglich auf. (Kurve B). Dabei ist Spektrum B mit einer Genauigkeit von

$\Sigma = 0,005$ die Summe der Spektren A und C.

Die Verhältnisse bei den operierten Tieren (Abb. 4) entsprechen wieder völlig denen des Normaltieres. Auch hier ergibt sich lediglich eine Addition der beiden Spektren. Ein Unterschied zwischen hypertrophen und insuffizienten Tieren konnte hierbei nicht festgestellt werden.

Die Spektren der beiden Tiere V 11 und 510 wurden willkürlich ausgewählt. Bei allen anderen Normal- und operierten Tieren stellten wir dasselbe Ergebnis fest. Jede der in Abb. 1 und 2 dargestellten Kurven stellt den Mittelwert von mindestens 3 Messreihen dar, die jeweils weniger als $\Delta \Sigma = 0,01$ voneinander abwichen.

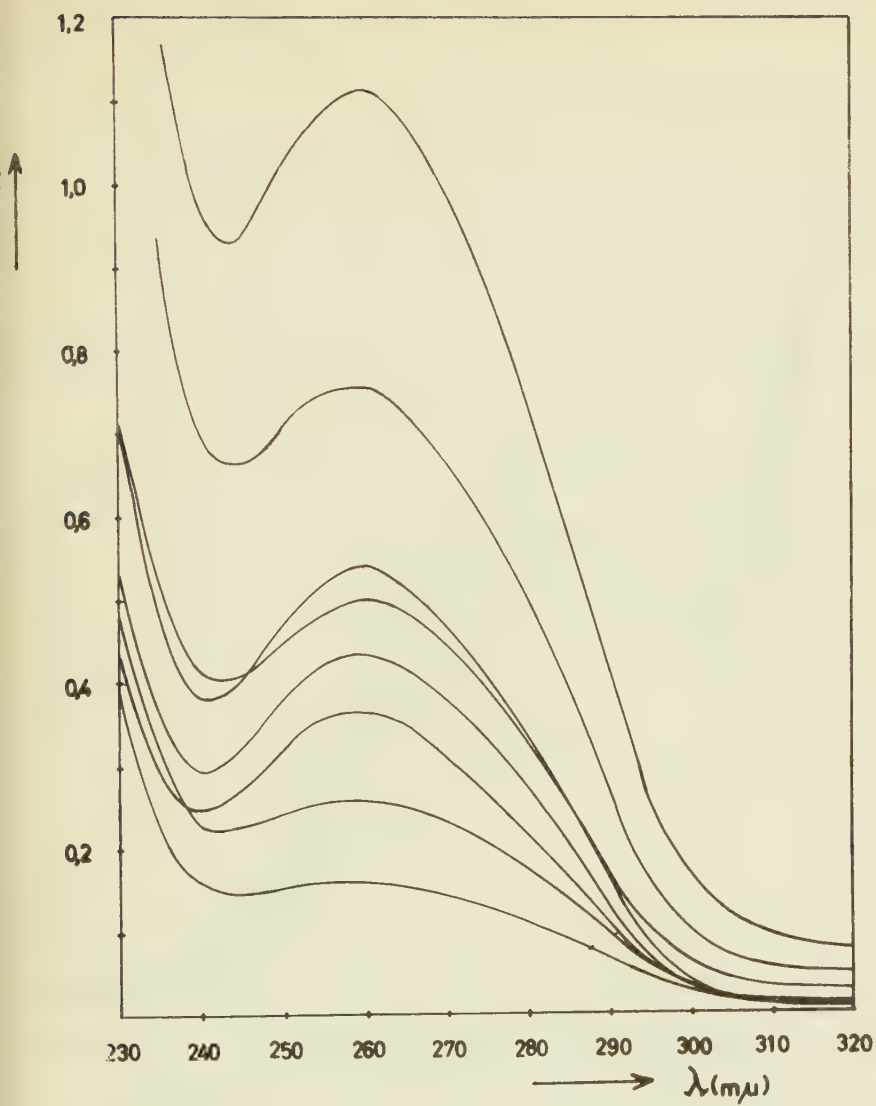
Abb. 5 zeigt die UV-Spektren die bei einigen ergänzenden Versuchen gewonnen wurden. Ihre weitere Diskussion siehe in der Besprechung der Ergebnisse.

Spalte 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tier Nr.,	Tiergew. g	Herzgew. g	Ventr. gew. g	Herzgew. Tiergew.	vor 1. Op.	nach 1. Op.	Carotidruck vor 2. Op.	bei Sektion	Klassifizierung	Actomyosin g%	max 280 mm
521	3500	16,88	12,04	4,82	23	45			doppelseitig insuffizient		
516	4370	22,27	18,46	5,09	19	53	52	67	hypertroph	1,87	0,363
502	5180	22,98	19,67	4,43	21	48			hypertroph	1,96	0,392
519	4950	16,76	21,92	3,38	15	33		46	linksinsuff.	2,01	0,456
497	4070	17,04	15,08	3,63	22	50		54	hypertroph	2,02	0,512
531	4450	22,87	18,70	5,14	20	27	41	67	doppelseitig insuffizient	2,04	0,444
522	4140	19,75	17,19	4,77	10	36	54	68	doppelseitig insuffizient	2,10	0,722
508	5300	23,92	18,25	4,51	19	34			doppelseitig insuffizient	2,23	0,655
510	5400	26,54	21,92	4,91	20	45		55	doppelseitig insuffizient	2,42	0,600
Mittelwerte	4595	21,00	18,14	4,56	19	41					0,581

TABELLE 2
Operierte Tiere

LEGENDEN ZU DEN ABBILDUNGEN

- ABB. 1 UV-Spektren von Actomyosinlösungen aus normalen Kaninchenherzen
- ABB. 2 UV-Spektren von Actomyosinlösungen aus hypertrophen insuffizienten und nicht insuffizienten Kaninchenherzen
- ABB. 3 UV-Spektrum von Actomyosin des normalen Kaninchenherzens V 11 (Kurve A). Dasselbe Spektrum nach Zugabe von Lanatosid C (Kurve B). Eigenabsorption des Lanatosid C (Kurve C).
- ABB. 4 Dasselbe für das doppelseitig insuffiziente Kaninchenherz Tiernummer 510.
- ABB. 5 UV-Spektrum eines mit unserer Methode aus Skelettmuskulatur (Kaninchenpsoas) gewonnenen Extraktes (Kurve 1)
UV-Spektrum von Adenosintriphosphat (Kurve 2)
UV-Spektrum von Actomyosin aus dem rechten Ventrikel eines operierten Tieres (Kurve 3)
UV-Spektrum des, nach Präcipitation und Abzentrifugieren von Actomyosin verbleibenden Überstandes (Kurve 4)
UV-Spektrum von Actomyosin bei Verwendung von Weber-Lösung statt 0,6 m KCl-Lösung zur Extraktion (Kurve 5).



BBILDUNG 1

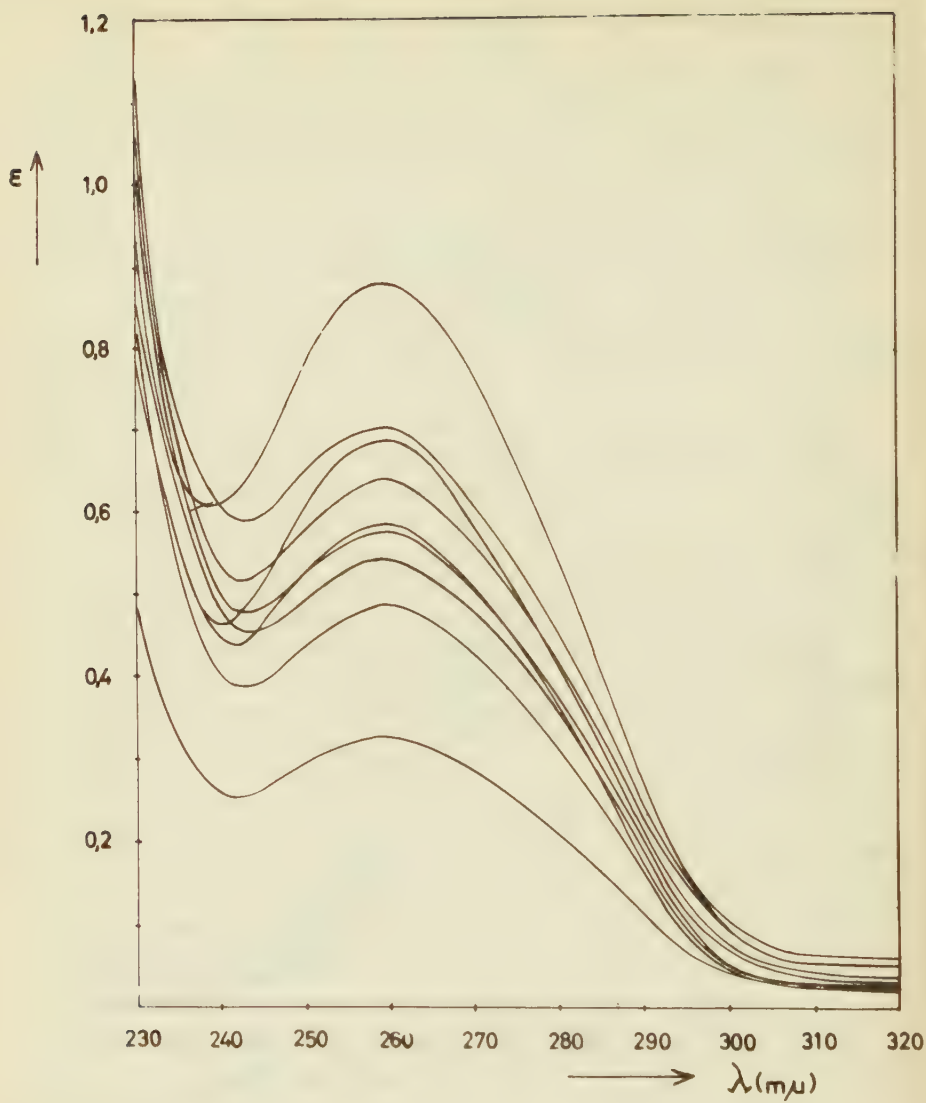


ABBILDUNG 2

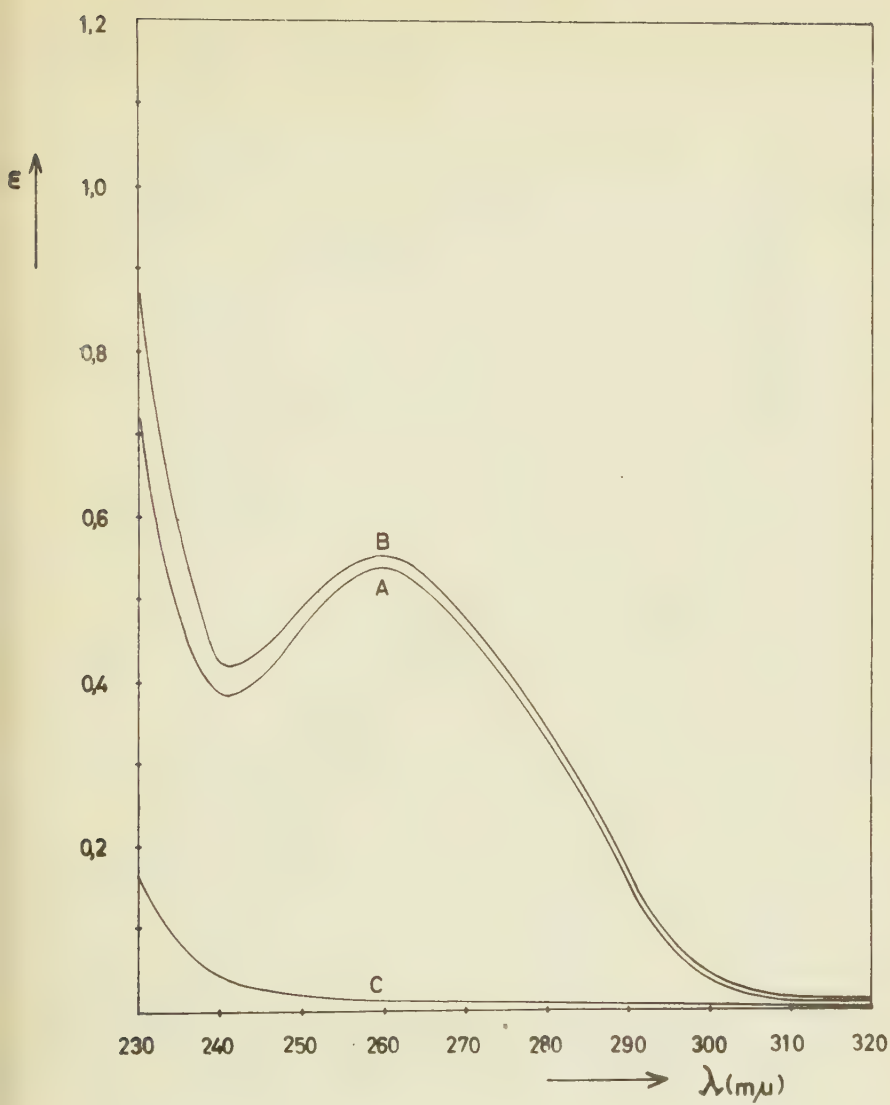


ABBILDUNG 3

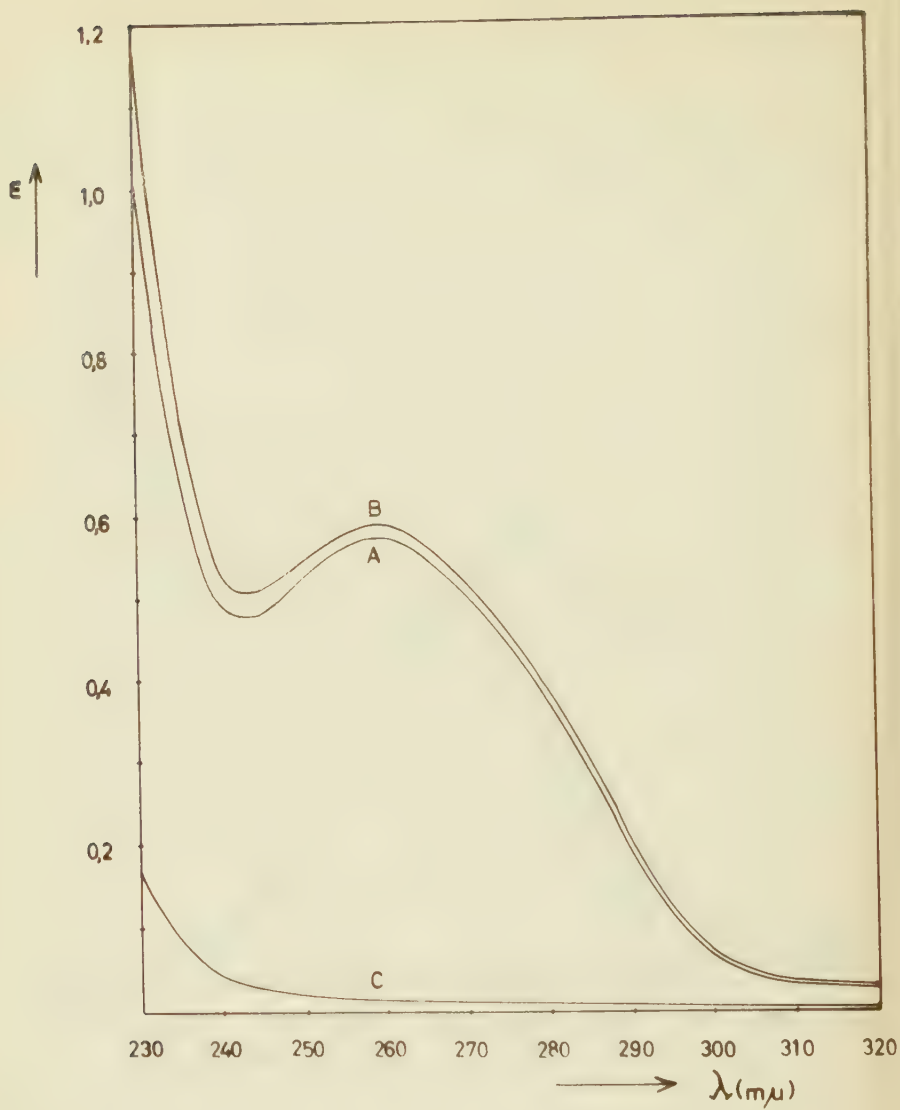


ABBILDUNG 4

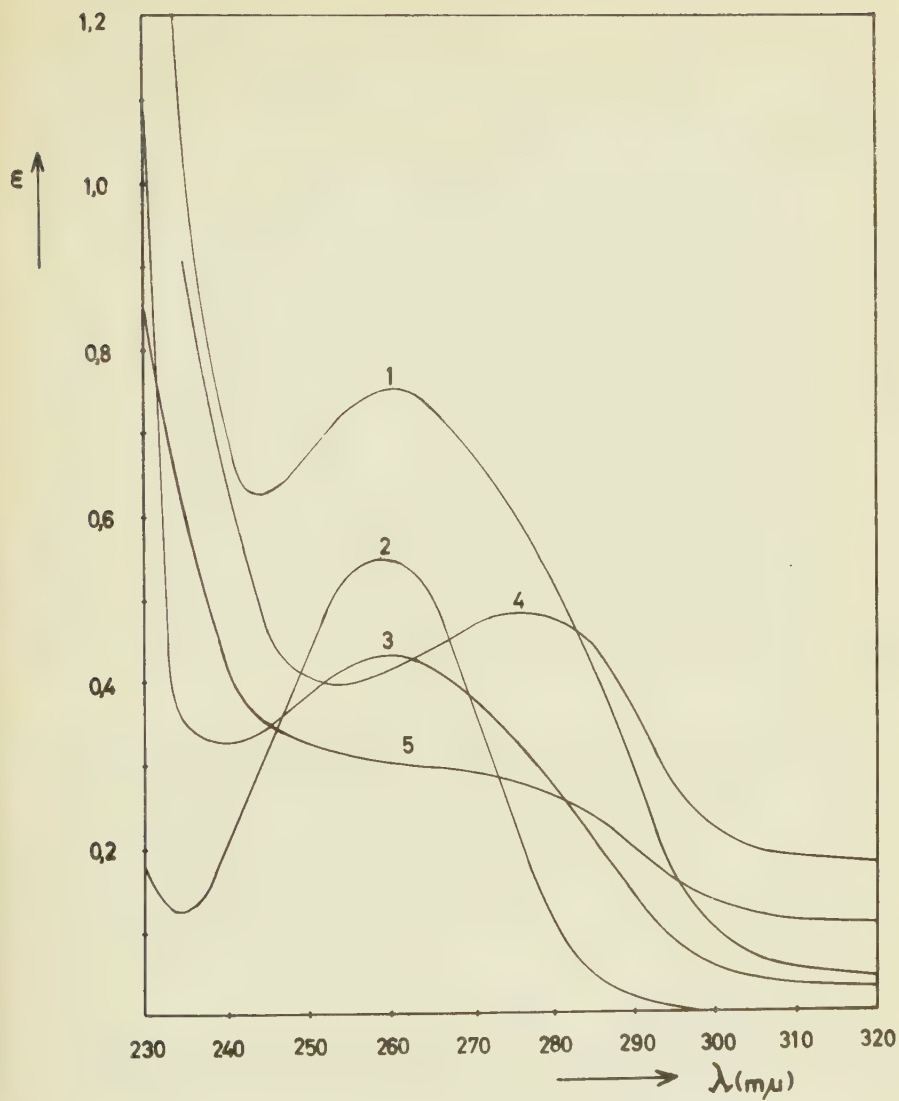


ABBILDUNG 5

Über Untersuchungen des UV-Spektrums von Proteinen liegen zahlreiche Arbeiten vor. Eine zusammenfassende Darstellung der bisherigen Ergebnisse, siehe z. B. BEAVEN und HOLIDAY (3, 4). Es zeigt sich, dass einige aromatische Aminosäuren charakteristische Absorptionsmaxima im UV-Bereich zwischen 250-300 μ haben. Von den in Myosin-Lösungen vorhandenen Aminosäuren zeigen in diesem Wellenlängenbereich vor allem Thyrosin (274 μ), Tryptophan (278 μ) und Phenylalanin (258 μ) ausgeprägte Maxima (3, 4, 42, 45, 67). Die unspezifische Absorption unter 250 μ wird auch von den azyclischen Aminosäuren mit verursacht (11). Das UV-Spektrum vom Actomyosin wurde bereits verschiedentlich untersucht (3, 4, 42, 45, 48, 67). Es handelte sich dabei meist um Lösungen, doch wurden auch Actomyosinfilme spektrophotometrisch gemessen (67). Alle diese Arbeiten ergeben übereinstimmend ein Absorptionsmaximum für Actomyosin bei etwa 275-280 μ .

Es konnte nachgewiesen werden, dass eine Modelllösung aus Tyrosin und Tryptophan im wesentlichen das Actomyosinspektrum ergibt, wenn beide Komponenten im selben Verhältnis gemischt werden, das die chemische Analyse des Actomyosins ergab (1, 3 : 8, 0) (67). Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass diese Zusammensetzung und die Struktur der Aminosäuren bei zunehmender Herzhypertrophie unbeeinflusst bleiben, wenigstens soweit dies UV-spektrophotometrisch erfassbar ist.

Das Prinzip der Präzipitation des Actomyosins ist bei allen Autoren dasselbe, wird jedoch in Einzelheiten variiert. Neuere Arbeiten beziehen sich dabei meist auf eine von SZENT GYÖRGYI angegebene Methode (68). Diese wird im wesentlichen auch bei unseren Versuchen angewandt. Es war deshalb zu erwarten, dass das von uns gemessene UV-Spektrum, das nach dieser Methode gewonnenen Actomyosins, mit dem früherer Arbeiten übereinstimmen müsste. Die Ergebnisse zeigen jedoch in allen von uns untersuchten Fällen ein deutliches Absorptionsmaximum bei 260 μ . Dies gilt sowohl für die Extrakte der Normal- als auch der hypertrophen Herzen.

Die früheren Arbeiten beziehen sich ausschliesslich auf Skelettmuskel-Actomyosin. Es war möglich, dass Herzmuskelactomyosin ein von Skelettmuskelactomyosin abweichendes Spektrum zeigt, da auch andere Eigenschaften Unterschiede der beiden Actomyosinarten zeigen (20). Es wurde daher in einem Versuch auch Skelettmuskelactomyosin (Kaninchenpsoas) nach unserem Verfahren isoliert, wobei sich jedoch ebenfalls das gleiche Spektrum ergab, mit einem Maximum bei 260 μ . Bei Verwendung von rechtem Ventrikel oder Vorhofmyokard eines Kaninchenherzens, bzw. Ventrikelmuskulatur eines Kalbsherzens zeigte sich ebenfalls ein Maximum bei 260 μ . Es wäre denkbar, dass sich

die Verschiedenheit dieser Spektren durch eine Abänderung der Isolierungsmethode erklären liesse. Die einzelnen Schritte unseres Verfahrens wurden daher näher untersucht:

Homogenisieren: Extrakte wurden mit anderen Methoden zur Muskelzerkleinerung (Mörser, Potter Elvehjem Homogenisator) gewonnen (Abb.3).

Extraktion: Die Extraktionszeit wurde auf 24 Stunden verlängert. Bei einigen Versuchen wurde WEBER-Lösung statt 0,6 m KCl-Lösung als Extraktionsmittel und zur Wiederauflösung des gefällten Proteins verwendet. Diese Spektren zeigten kein Maximum mehr. Die Kurve fiel bis etwa 240 m μ ab, zeigte dann bis etwa 280 m μ ein Plateau, um dann wieder stärker abzufallen. Auffallend war ausserdem, dass hierbei das Actomyosin gel stärker verdünnt werden musste, um in den Messbereich des Gerätes zu kommen (Abb.3). Diese Kurvenabflachung könnte, in Übereinstimmung mit Ergebnissen anderer Autoren (67), auf den alkalischen pH-Wert der WEBER-Lösung (9,3) gegenüber dem praktisch neutralen pH (6,8) unserer sonstigen 0,6 m KCl-Lösungen zurückgeführt werden. Bei Verwendung einer auf pH 7,4 eingestellten Pufferlösung, blieb das Maximum bei 260 m μ .

Zentrifugieren: Bei einigen Autoren wird bei der Herstellung des Actomyosins nur niedrigtourig zentrifugiert (2000 UpM). Bei anderen vermisst man eine genauere Angabe über die Dauer und Umdrehungszahl. Durch längeres hochtouriges zentrifugieren (17000 UpM) könnte sich eine Abweichung in der Zusammensetzung des Bodensatzes gegenüber anderer Methoden ergeben. Ähnlich hochtouriges zentrifugieren findet man in der Arbeit von ROBB (63). In einem Versuch wurde deshalb statt 45 Minuten nur 15 Minuten hochtourig zentrifugiert.

Dialyse: Dieser Arbeitsgang wurde zusätzlich eingeführt, um evtl. störende UV-Banden niedermolekularer Stoffe auszuschliessen.

Bei den bisher beschriebenen Ergänzungsversuchen machte sich keine Veränderung unseres Kurvenverlaufes bemerkbar.

Ausfällen: Es wurde in einigen Versuchen der nach dem Abzentrifugieren bleibende Überstand spektrometrisch untersucht. Es zeigt sich immer ein Absorptionsmaximum von 270-280 m μ , dessen Höhe allerdings zeitlich nicht konstant blieb. Es wurde deshalb bei der Ausfällung stärker verdünnt. Das Präzipitat zeigte jedoch wieder wie früher das Maximum von 260 m μ .

Waschen: Die überstehenden Waschlösungen (0,1 m KCl-Lösung) waren nach zweimaligem Waschen praktisch frei von UV-absorbierten Substanzen. Dieses zusätzliche Waschen wird in der Methode von SZENT GYÖRGYI und HAYASHI (68,31) nicht angegeben.

Auflösen: Bei Verwendung von 2 m KCl-Lösung zur Wiederauflösung des ge-

waschenen Präzipitates ergibt sich wiederum keine Änderung des Spektrums.

Bei unseren Versuchen hat sich das gewaschene Präzipitat nicht wieder quantitativ in 0,6 m KCl-Lösung wiederauflösen lassen. Der geringe Rückstand wurde näher untersucht; dabei ergab sich in den zwei untersuchten Fällen, dass nach dem Verfahren von Kjeldahl kein Stickstoff nachgewiesen werden konnte. Eine Zugabe von ATP (Abb.3) zum Rückstand bewirkte ebenfalls keine völlige Wiederauflösung.

In zwei Fällen wurde die Versuchsanordnung der Methode umgekehrt. Durch Homogenisieren und Extrahieren in 0,1 m KCl sollten zuerst die leicht löslichen Proteine gelöst werden. Nach mehrmaligem Zentrifugieren wurde dann aus dem Bodensatz das Actomyosin in 0,6 m KCl gelöst und nach einigen Stunden die übrigen Zellfragmente hochtourig abzentrifugiert. Der Überstand konnte nach der üblichen Methode weiter verarbeitet werden. Auch die nach dieser Variation der Methode erhaltenen Spektren unterscheiden sich von den bei unserer Standardmethode erhaltenen Kurven nicht.

Diese ergänzenden Versuche zur Methode ergeben somit keinen Hinweis zur Klärung der oben angeführten Diskrepanz. Das Vorhandensein von Actomyosin in der Endlösung, wurde durch den Viskositätsabfall nach Zugabe eines Tropfens einer 10^{-3} m ATP-Lösung auf 1 ml Stammlösung bestätigt. Die Viskosität sank dabei von 3,2 cps auf 2,0 cps bzw. von 2,4 cps auf 1,7 cps. Dies entspricht einem relativen Viskositätsabfall von 30-40 %. Die Messungen wurden mit einem Brockfield Mikroviskosimeter durchgeführt.

KOFMAN (41) findet eine Zunahme der Absorption bei 250 m μ , vermutlich zurückzuführen auf eine Änderung der Sekundärstruktur des Proteins bei Denaturierung. Möglicherweise wird das Actomyosin auch durch Verunreinigung überlagert.

Es ist bekannt, dass z.B. ATP ein deutliches Absorptionsmaximum bei 260 m μ hat (63) (Abb.3), jedoch wird nach ROBB (63) bei gleichzeitigem Vorhandensein von ATP und Actomyosin ersteres nach etwa 48 Stunden praktisch vollständig abgebaut, wobei auch das Maximum verschwindet. Unsere Substanz zeigt aber auch nach längerer Zeit und Dialyse denselben Kurvenverlauf. Auch Phenylalanin zeigt im Bereich von 260 m μ ein charakteristisches mehrfach gezacktes Maximum, das mit unserem Spektrum jedoch keine Ähnlichkeit aufweist.

Die Adenonucleotide sind fest an das Actin bzw. Myosin gebunden. ADP lässt sich durch Dialyse nicht von G-Actin abtrennen. An Substanzen, die ein Absorptionsmaximum bei 260 m μ haben, kommen noch Ribonucleinsäure in Frage (11, 45).

MIHALYI u.a. konnten aus Actomyosinlösungen durch Extraktion mit Trichlor-

essigsäure bzw. 10 % NaCl einen Anteil von Ribonucleinsäure abtrennen (52). Der so gewonnene Extrakt zeigt ein Maximum bei 260 m μ . Die RNS ist durch die üblichen Reinigungsmethoden nicht vom Actomyosin zu trennen.

Von ROBB (62, 63) wurde angegeben, dass einige Substanzen, darunter auch Herzglykoside bei Einwirkung von Actomyosin dessen Spektrum verändern. Es wird hierbei meist eine Senkung des gesamten Kurvenverlaufes beschrieben. Ein solcher Effekt konnte bei unseren Versuchen für Cedilanid weder bei normalen noch bei hypertrophem Myokard gefunden werden. Die Eigenabsorption des Cedilanids addierte sich in allen Fällen dem Actomyosinspektrum lediglich auf.

ZUSAMMENFASSUNG

Aus 8 normalen und 9 durch künstliche Aortenklappeninsuffizienz hypertrophen, z.T. chronisch insuffizienten Kaninchenherzen wurden Actomyosinlösungen UV-spektrophotometrisch untersucht.

Es ergab sich dabei ein typischer, in allen Versuchen gleichbleibender Kurvenverlauf, mit einem Maximum bei 260 m μ .

Weder bei hypertrophen noch bei insuffizienten Herzen liess sich irgendeine Veränderung des Actomyosinspektrums gegenüber Normaltieren feststellen.

Eine Zugabe von Lanatosid C, in einer Endkonzentration von einigen 10^{-6} m, zur Actomyosinlösung hatte keinen Einfluss auf das Spektrum. Herzhypertrophie und Insuffizienz veränderte dieses Verhalten des Glykosids zur Actomyosinlösung nicht.

Die Abweichung des Maximums der Actomyosinlösung gegenüber Angaben anderer Autoren wurde in einigen Experimenten zu klären versucht. Es wird angenommen, dass sie auf die Anwesenheit von Ribonucleinsäure oder Adenonucleotide im untersuchten Extrakt zurückzuführen ist.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BAILEY K.: Composition of the Myosins and Myogen of skeletal muscle.
Biochem.J.31, 1406 (1937)
2. BAUER H.: Zur Kenntnis der Ursachen der Kumulierungsercheinungen
der Digitalisglykoside. Sekundäre Schädigungen des Herz-
muskels.
Naunyn-Schmiedebergs Arch.176, 74 (1934)
3. BEAVEN G.H.: The ultra-violet absorption spectra of proteins and related
compounds.
Advances in Spectroscopy 1961. Vol.II
4. BEAVEN G.H., HOLYDAY E.R.:
Ultraviolet absorption spectra of proteins and amino acids.
Advances in Protein Chemistry. Vol.VII, 1952.
5. BENSON E.S.: Composition and state of protein in heart muscle of normal
dogs and dogs with experimental myocardial failure.
Circulat.Res.3, 221 (1955)
6. BING R.J.: Disturbances in myocardial metabolism.
Fortschr.Kardiol.1, 52 (1956)
7. BOGATZKY M., STAUB H.:
ATP-System und übriger Phosphatstoffwechsel im norma-
len und akut insuffizienten Herzmuskel unter Behandlung
mit Herzglykosiden.
Z.ges.exp.Med.127, 425 (1956)
8. BOWEN W.J.: Effect of digoxin upon rate of shortening of myosin B
threads.
Federat.Proc.11, 16 (1952)
9. BÜCHNER F.: Herzmuskelnekrose durch hohe Dosen von Digitalisglykosi-
den.
Naunyn-Schmiedebergs Arch.176, 59 (1934)
10. CALHOUN J.A., HARRISON T.R.:
The effect of digitalis on the potassium content of the car-
diac muscle of dogs.
J.clin.Invest.10, 139 (1931)
11. CASPERSON T.:
Naturwiss.28 (1940), 514

12. CAVIEZIEL R., KOLLER H., WILLBRANDT W.:
Zur Frage des K^+ - Ca^{++} Antagonismus am Herzmuskel
und seiner möglichen Beziehung zu Ionentransporten.
Helv. physiol. pharmacol. Acta 16, 22 (1958)
13. CONN H.L., jr.: Effects of digitalis and hypoxia on potassium transfer and
distribution in the dog heart.
Amer. J. Physiol. 184, 548 (1956)
14. DAVIS J.O., TRAPASSO M., YANKOPOULOS N.A.:
Studies of actomyosin from cardiac muscle of dogs with
experimental congestive heart failure.
Circulat. Res. 7, 957 (1959)
15. DAVIS J.O., CARROL W.R., TRAPASSO M., YANKOPOULOS N.A.:
Chemical characterization of cardiac myosin from nor-
mal dogs and from dogs with chronic congestive heart
failure.
J. clin. Invest. 39, 1463 (1960)
16. DUDEL J., TRAUTWEIN W.:
Elektrophysiologische Messungen zur Strophantinwirkung
am Herzmuskel.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 223, 393 (1958)
17. DYBING O., HOLZHAUSEN H.G.:
Über die Bindung von Digitalisstoffen an die Eiweissfraktio-
nen von Herz- und Skelettmuskeln.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. 149, 248 (1939)
18. EDMANN K.A.P.:
Wirkung des Ouabains auf das Actomyosin der Herzmus-
kulatur.
Experientia 7, 71 (1951)
19. EDMANN K.A.P.:
Action of ouabain on ATP-induced contraction of glyce-
roextracted fibers.
Experientia 9, 107 (1953)
20. ELLENBOGEN E., IYENGAR E., STERN H., OLSON R.E.:
Charakterization of myosin from normal dog heart.
J. biol. Chem. 235, 2642 (1959)

21. FINKELSTEIN M., BODANSKY O.:
The effect of cardiac glykosides on the respiration of cardiac muscle.
J. of Pharmacol. 94, 274 (1948)
22. FISCHER H., HUBER P., LANGEMANN H.:
Die Atmung von Herzmuskelschnitten unter dem Einfluss herzaktiver Glykoside.
Helvet. physiol. pharmacol. Acta 9, 416 (1951)
23. FISCHER H.: Über Aufnahme, Bindung und Abbau von Digitalisstoffen und den sich daraus ergebenden Beziehungen zu ihrer Wirkung am Herzen.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 130, 111 (1928)
24. FREITAG R.: Dissertation München 1964
25. GEORGE S. T., FRIEDMANN M., ISHIDA T.:
Intracellular distribution of digitoxin.
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 83, 318 (1953)
26. GOODWIN T. W., MORTON R. A.:
The spectrophotometric determination of Tyrosin and Tryptophan in proteins.
Biochem. J. 40, 628 (1946)
27. GRISOLA S.: Biochem. biophys. Acta 18, 437 (1955)
28. GUHL H.: Dissertation München 1961
29. HAJDU S.: Mechanism of staircase and contracture in ventricular muscle.
Amer. J. Physiol. 174, 371 (1959)
30. HARVEY S. C., PIEPER G. R.:
Intracellular distribution of digitoxin C^{14} in the heart.
J. pharmacol. Baltimore 114, 14 (1955)
31. HAYASHI T.: Contractile properties of compressed monolayers of actomyosin.
J. Gen. Physiol. 36, 139 (1952)
32. HEGGLIN R., GRAUER H., MÜNCHINGER R.:
Die Beeinflussung der ATPase Aktivität des Herzmuskels durch verschiedene Substanzen.
Experientia 5, 127 (1949)

33. HEUBNER SCHÜLER;
Handbuch der Pharmakologie, Ergänzungsband I, 1935
34. HOCHREIN H., DÖRING H.J.:
Das Verhalten der energiereichen Phosphate am normalen
und insuffizienten Herzen und bei verschiedenen Belastungs-
graden am Herz-Lungen Präparat.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. 232, 290 (1958)
35. HOLIDAY E.R.: Biochem. J. 30, 1803 (1936)
36. HOLZHAUSEN H.G.:
Naunyn-Schmiedebergs Arch. 194, 260 (1939)
37. HORVATH L., KIRALY C., CZERB J.:
Action of cardiac glycosides on the polymerization of ac-
tion.
Nature 164, 792 (1949)
38. KAKO K., BING R.J.:
Contractility of actomyosin bands prepared from normal
and failing human hearts.
J. clin. Invest. 37, 465 (1958)
39. KAY C.M., GREEN W.A.:
Physicochemical and enzymatic studies on cardiac myosin
A.
Circulat. Res. 5, 38 (1964)
40. KORFMACHER K.N.:
Naunyn-Schmiedebergs Arch. 194, 217 (1931)
41. KOFMAN E.B., KALAMHOVVA M.B.:
Changes in the absorption spectra of dissolved myosin upon
denaturation.
Biophys. USSR 3, 388 (1958)
42. KRATKY O., SCHAUENSTEIN E., TREIBER E.:
Monatsh. Chem. 78, 174 (1947)
43. KUSCHINSKY G., LANGE G., TURBA F.:
Über die Wirkung von Digitoxin auf die Freilegung von Ac-
tomyosin und seine Komponenten aus den Strukturen des
Muskels.
Arch. exp. Path. Pharmak. 215, 249 (1952)

44. KUTSCHERA H.:
Über Herzschwäche.
Wien.Archiv klin.Med.18, 209 (1929)
45. LANDOLT-BÖRNSTEIN:
6.Auflage I, Band 3
46. LANGEMANN H., BRODY T.M., BAIN J.A.:
In vitro effects of ouabain on slices and mitochondrial preparations from heart and brain.
J.Pharmakol.exp.Therap.108, 274 (1953)
47. LINZBACH A.I.
Handbuch der allgemeinen Pathologie
Bd.6, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1955)
48. LJUBIMOWA M.N., SCHIPALOW N.S.:
Das Absorptionsspektrum des Myosin im UV.
Chem.Zentr.2, 49 (1941)
49. METZLER A. v.:
Klin.Wschr.31, 448 (1953)
50. MÖLLER K.O.:
Lehrbuch der Pharmakologie 1963
51. MORTONOS A., GOUVEA M.A., GERGELY J.:
Actin as a component of Myosin.
J.Biol.Chem.235, 3169 (1960)
52. MIHALYI E., LAKI K., KNOLLER M.I.:
Arch.Biochem.Biophys.68, 130 (1957)
53. NOWY H., BLASIUS R., KARL O.:
Vergleichende elektrophoretische Untersuchungen von Herz- und Skelettmuskelproteinen verschiedener Tierarten.
Z.exp.Med.126, 12 (1955)
54. NOWY H., FRINGS H.D., WALCHER A., TENDERICH L.:
Proteinzusammensetzung des Myokards bei experimenteller Herzhypertrophie.
Z.exp.Med.131, 478 (1959)
55. NOWY H., FRINGS H.D., HOLLAND-HULL N.:
Untersuchungen über die Eiweisszusammensetzung des Myokards im zeitlichen Ablauf der experimentellen Herzhypertrophie.
Z.exp.med.135, 343 (1962)

56. OLSON R.E.: Amer.J. Med. 30, 692 (1961)
57. POST R.L., MERRITT C.R., KINSOLVING C.R., ALBRINGHT C.D.:
Membran ATP as a participant in the active transport of
Sodium and Potassium in the human erythrocyte.
J. biol. Chem. 235, 1796 (1960)
58. REITER M., BARRON E.S.G.:
Arch. exp. Path. Pharmacol. 214, 298 (1958)
59. ROTHLIN E., BIRCHER R.:
Pharmakodynamische Grundlagen der Therapie mit herz-
wirksamen Glykosiden.
Ergebnisse d. inn. Medizin 5, 457 (1954)
60. ROTHLIN E., TAESCHLER M.:
Zur Wirkung der herzwirksamen Glykoside auf den Myokard-
stoffwechsel.
Fortschr. Kardiol. 1, 189 (1956)
S. Karger, Basel/N. Y.
61. ROBB J.S., MALLOV S.:
Effect of ouabain on actomyosin threads.
J. Pharmacol. Baltimore 108 (1953)
62. ROBB J.S.: Fed. Proc. 13, 118 (1954)
63. ROBB J.S.: A spectrophotometric study of actomyosin.
Circulat. Res. 3, 525 (1955)
64. SCHAEER H.: Über die Bindung von Herzglykosiden an Skelettmuskel-
Myosin des Kalbes.
Cardiologia 40, 48 (1962)
65. SCHATZMANN H.J.:
Helv. physiol. pharmacol. Acta 19, 196 (1961)
66. SCHATZMANN H.J., WITT P.N.:
Action of k-strophanthin on Potassium Leakage from sartorius muscle.
J. Pharmacol. exp. Therap. 112, 501 (1954)
67. SCHAUENSTEIN E., TREIBER E.:
Ultraviolet absorption spectra of actomyosin.
J. Polym. Sci. 5, 145 (1950)

68. SZENT GYÖRGYI A.:
Chemistry of Muscular Contraction.
Academic Press N. Y. 51
69. SNELLMANN O., GELOTTE B.:
A reaction between a deaminase and heart actin, and inhibition of the effect with cardiac glykoside.
Nature 165, 644 (1950)
70. SCHLIOMENSUN B.:
Über die Bindungsverhältnisse zwischen Herzmuskel und Digitalis.
Arch. exp. Path. Pharmac. 63, 294 (1910)
71. SCHULZE G., SÜDHOF H.:
Über den Lipidgehalt des hypertrophierten Säugetierherzens.
Pflügers Arch. 258, 211 (1953)
72. SPRAAT J. L., OKITA G. T.:
Subcellular localisation of radioactive digitoxin.
J. Pharmacol. Baltimore 124, 115 (1958)
73. STRAUB F. B.: Nature 162, 217 (1948)
74. SULSER F.: Die Wirkung von Herzglykosiden und Calcium auf den Ionen-transport im Herzmuskel.
Experientia 15, 97 (1959)
75. TAESCHLER M., FERNANDEZ E., CERLETTI A., ROTHLIN E.:
Action of lanatoside C on dinitrophenol induced failure of the heart-lung-preparation.
Ergebnisse d. inn. Medizin 5, 457 (1954)
76. VICK R. L., KAHN J. B.:
Effects of ouabain and veratridine on potassium movements in the isolated guinea pig heart.
J. Pharmacol. exp. Therap. 121, 389 (1957)
77. WASER P. G.: Über den Wirkungsmechanismus von Herzglykosiden.
Schweiz. med. Wschr. 27, 819 (1962)
78. WEIDMANN S.:
Effect of increasing the Ca^{++} concentration during a single heart beat.
Experientia 15, 128 (1959)

79. WEBER H.H.: Biochem.Biophys.Acta 12, 150 (1953)
80. WILLBRANDT W.:
Schweiz.med.Wschr.85, 315 (1955)
81. WOLLENBERGER A.:
Metabolic action of the cardiac glycosides.
J.Pharmakol.Baltimore 103, 123 (1951)
82. WOLLENBERGER A.:
Neuere Erkenntnisse über den Herzstoffwechsel.
Deutsches Gesundheitslexikon 14, 1324 (1959)
83. WOLLENBERGER A.:
Metabolic action of the cardiac glycosides.
J.Pharmakol.exp.Therap.91, 39 (1947)
84. WOLLENBERGER A.:
The energy metabolism of the failing heart and the metabolic action of the cardiac glycosides.
Pharmakol.Rev.1, 311 (1949)
85. WOLLENBERGER A.:
Science 113, 64 (1951)
86. WOODBURY HECHT:
Circulation 6, 172 (1952).

Herrn Prof. Dr. H. NOWY danke ich für die Überlassung des interessanten Themas und seine stetige Unterstützung. Herrn Dr. H. D. FRINGS sei Dank für die freundlichen Anleitungen.

LEBENS LAUF

Ich, Gerhard Winfried Gaukler, wurde am 30. September 1939 in Ellwangen/J. als Sohn des Schreinermeisters Alfons Gaukler und seiner Ehefrau Mathilde geb. Zeller geboren. Nach der Grundschule besuchte ich von 1949 bis 1958 das Peutingen-Gymnasium Ellwangen/J. und bestand dort die Reifeprüfung. Seit 1958 war ich an der Universität München immatrikuliert und bestand dort 1961 die ärztliche Vorprüfung. Das Staatsexamen legte ich im Frühjahr 1965 an der Universität München ab.

